

# Optimalisasi Teknik PCR Untuk Deteksi Dini Bakteri Layu, *Ralstonia solanacearum*, pada Beberapa Varietas Benih Kentang

(Optimization of PCR Technique for the Detection of Bacterial Wilt Disease on Several Potato Varieties)

TUTIK KUSWINANTI, ANDI NASRUDDIN, DAN ADE ROSMANA

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin  
Jl. Perintis Kemerdekaan KM.10, Makassar

J. Fitomedika. 7 (2): 115 –118 (2010)

**ABSTRACT** Potato production industry is constantly challenged by pest and disease problems that can cause economic losses of yield. One of the most important potato diseases worldwide is *Ralstonia wilt* disease, caused by *Ralstonia solanacearum*. The pathogen can be transmitted through vegetative production materials such as tubers and plantlets; hence the use of healthy propagative materials is very effective to control the disease. Therefore, the purpose of this study was to develop an optimal polymerase chain reaction (PCR) protocol that can be used for early detection of *Ralstonia solanacearum* in seeds of four different cultivars of potato. The pathogen was detected using a PCR protocol with *R. Solanacearum* specific-primers. The positive and negative controls were DNA extracted from pure culture of *R. solanacearum* and infected potato plants and healthy plants, respectively. To optimize the PCR protocol, two DNA extraction methods were used: manual and Mycrolysis kits. The extracted DNAs were then used to detect the presence of *R. solanacearum* in tubers of potato cv. Atlantic, Granola, Kalosi, and Nikola. Our results indicated that in terms of the quality and quantity of the extracted DNA, the manual DNA extraction method was better than the use of the Mycrolysis kits. All tubers from four cultivars tested were not infected by *R. solanacearum* while the positive control samples were confirmed infected.

**KEYWORDS** *Ralstonia solanacearum*, PCR, Electrophoresis

Produksi kentang yang bermutu sangat ditentukan oleh kualitas bibitnya karena bibit yang baik akan menghasilkan produk yang baik pula. Kebutuhan bibit kentang nasional setiap tahunnya diprediksi mencapai 120.000 ton. Selama ini kebutuhan bibit yang sehat dan bermutu baru dapat tercukupi sekitar 2.100 ton, yang sebahagian besar adalah import (Pitojo 2004). Jumlah bibit bermutu yang dipasok oleh penangkar sangat terbatas, dilain pihak bibit impor yang bermutu tinggi harganya sangat mahal. Kondisi ini menyebabkan para petani enggan untuk menggunakan bibit bermutu untuk proses produksi. Tingginya serangan hama dan penyakit dan rendahnya penguasaan teknologi baru juga merupakan masalah yang perlu segera ditangani (Baharuddin 2005).

Gejala awal adalah tanaman mulai layu, kemudian menjalar ke daun bagian bawah. Gejala yang lebih lanjut seluruh tanaman layu, daun menguning sampai coklat kehitam-hitaman, dan akhirnya tanaman mati. Serangan pada umbi menimbulkan gejala dari luar tampak bercak-bercak kehitam-hitaman, terdapat lelehan putih keruh yang merupakan massa bakteri yang keluar dari mata tunas atau ujung stolon (Hayward and Denny 2001).

Salah satu cara memperoleh bibit kentang yang bermutu tinggi dapat dilakukan dengan perbanyakan tanaman secara *in vitro* atau kultur jaringan. Produksi bibit kentang dengan bahan tanam stek mikro yang dihasilkan melalui kultur jaringan yang bertujuan untuk menghasilkan bibit umbi mini generasi 0 ( $G_0$ ) atau biasa juga disebut tanaman induk. Generasi 0 ditanam untuk menghasilkan  $G_1$ ;  $G_1$  (benih penjenis) menghasilkan  $G_2$  sebagai benih dasar,  $G_2$  akan menghasilkan  $G_3$  sebagai benih pokok dan  $G_4$  sebagai benih sebar untuk disebar ke tingkat petani (Soelarso 1997).

Keberhasilan PCR sangat ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain komposisi larutan PCR, dan kondisi PCR. Oleh karena itu untuk mendeteksi bakteri pada tanaman menggunakan metode PCR, faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan reaksi PCR perlu dioptimalkan. Dari hasil penelitian ini diharapkan akan diperoleh teknik deteksi dini patogen pada tanaman kentang yang paling optimal secara molekuler untuk menghindari penyebarannya secara sistemik di lapangan.

## Bahan dan Metode

### Sampel Tanaman dan Ekstraksi DNA

Sampel yang diuji berupa benih kentang yang terdiri dari varietas Nikola, Kalosi, Raja, Granola yang